養液栽培技術講習會專刊　第三輯　74～81，1990

作物要素缺乏之快速診斷

李國權・林慧玲

緒　　言

作物組織無機養分分析，一般採用原子吸收光譜儀（atomic absorption spectrophotometer）或焰光儀（flame photometer），但儀器設備價格昂貴，不是一般農友所能負擔，而且樣品採集及處理也較複雜。原子吸收光譜儀以分析金屬元素為主，採集之樣品用高溫或強酸灰化後可測定植株要素之總量，包括已經合成為植株組織之要素以及溶解於汁液中的要素成分，所以稱為總量或定量分析（total or quantitative analysis）；快速組織測試（Rapid tissue test）係測定已被植株吸收但未被同化尚維持溶解狀態汁液中的無機成分，稱為半定量分析（Semiquantitative analysis）。鉀在植株體內大部分以離子狀態溶解於細胞液中，因此速測法之結果亦可表示其總量。

快速組織測試之優點

一些快速測試法因過於簡單，測試結果容易發生誤導，最好做為確認症狀之輔助，但也有學者認為測定部分的無機養分濃度，如溶解在水、稀酸或螯合劑中之要素，亦可做爲良好的養分狀況指標：植株水溶性之鋅量較總鋅量或碳酸酐酶（Carbonic anhydrase，含鋅酵素）更能代表鋅的養分狀況。在易累積硝酸態氮的作物，例如甜菜，測定葉柄之硝酸態氮濃度較測其總氮量更為準確（Gilbert et al 1983），許多年來，這種測定方法已經成功地被應用在氮素施肥量之推薦上。但在硝酸鹽易被根部還原之作物（如薔薇科植物）或者在施用銨態氮時，通常測定其胺基酸或醯胺（amide）為主（Marschner, 1986）。

在硫的測定方面，測定吸收與貯藏形式的硫酸鹽（sulfate）或者是硫酸鹽與總硫量的比率，為一良好的指標（Urich and Hylton, 1968; Islam and Ponnamperuma, 1982）；又鈣在植物體內易與草酸結合沈澱而不能被植物利用，所以一些容易發生鈣缺乏症狀之作物常含有較高的草酸，因而溶解性鈣含量較少而易發生缺乏症狀（Brumagen and Hiatt，1966），因此測定溶解性鈣濃度為較佳的診斷方法。在另一方面，植株含鐵之總量並非可靠之營養指標，鐵缺乏之臨界濃度或容許濃度範圍等資料，僅可供參考之用（Chapman，1966）。因此，測定其生理活性或可資利用鐵之濃度，包括稀酸或螯合劑萃取之鐵，為比較可靠之方法。

可溶性養分之萃取

快速測定可溶性養分，一般直接採用植株適當部位如葉片、葉柄、草本植物莖之基部等，取其汁液即可。但也有許多溶劑被用來萃取植株體內之可溶性養分，這些溶劑包括水、稀釋之有機酸與礦石酸及緩衝酸類如摩根試劑（Morgan′s reagent）。這類試驗通常取各種植株葉柄中部，切碎，稱取 4 g鮮重，浸泡在40mℓ的摩根試劑中15分鐘後過濾，如有色素存在時，每25mℓ濾液加入0.2g純化之活性碳，攪拌後再過濾，即可用於測試各種養分濃度（Nicholas 1948,

* 中興大學園藝學系教授及助教

1957）。

各種養分缺乏症狀及測試方法

氮之測定

在缺氮的情況下，作物地上部生長減少，下位葉黃化，根部增長，但僅具主根，側根減少，且根之色澤由正常白色轉變為棕色，這是由於木質素過度合成的關係。因此養分吸收減少而影響地上部生長，地上部與地下部長度比率降低（Yoshiaki，1971），在水耕栽培時容易發現此症狀。缺氮速測方法有以下四種：

(一)Merckoquant 試條法

氮及其他要素之速測常用的 merckoquant 試條，係由西德默克（Merck）公司製造，可測試硝酸態氮、銨態氮、鉀、鈣、銅、鐵、錳、鋅、硫、氯等，但因色素干擾及濃度等問題並不能完全適用在植株汁液分析上。其中廣泛地被用在田間速測及實驗室中初步測試之用的為硝酸態氮之測定，可以半定量方式處理大量樣品以估計養分含量及決定是否需要進一步利用更精確的定量分析。其主要用途除了測定植株組織及土壤中之氮濃度外，並可應用在水耕液養分濃度之測定。

Merckoquant 試條對於離子測定甚為專一，具備現代速測方法之各種條件，其主要特點是：

1.使用容易，節省時間，經濟實惠。

2.使用範圍廣，具有足夠之敏感度。

3.測試結果與正式實驗分析有良好之相關性。

4.在適宜之貯藏情況下，能夠保持長時間的穩定性。

利用 Merckoquant 測試氮素時，將試條放置在堅實的平面上，藥膜面朝上，再將採集之葉柄，靠近頂端之感應小區塊，以筆桿壓擠葉柄，使汁液流出滲入感應小區塊中，待約二分鐘，將呈色之小方塊與標準色條比較，即可得知硝酸態氮之濃度。如果組織硝酸態氮濃度甚高，呈色反應在二分鐘內完成，則需記錄呈色所需時間，並由下列公式計算或由時間濃度轉換表查明正確濃度（參閱養液栽培技術講習會專刊第一輯），但植物體內硝酸根濃度可因紅蜘蛛危害或乾旱等影響而增加，應加注意。硝酸態氮濃度與反應時間關係之公式：

$NO_3 = 10^{(4 \cdot 9 - 1 \cdot 085 \log t)}$

(二)二苯胺（Diphenylamine）法

二苯胺亦為測試硝酸態氮之試藥。配製法是將0.2g二苯胺溶於100mℓ不含硝酸鹽之濃硫酸中（硫酸腐蝕性強，應小心處理），貯藏於有蓋之玻璃瓶，加標籤並放置於暗處，使用時加一滴試劑於縱切葉柄或其他部位之切口上，如果試劑快速變為藍色，表示植株氮素供應充足，如果試劑不呈色或者緩慢地轉變為藍色，植株可能有缺氮的現象（Albert et al, 1980）。缺硫與缺氮的症狀類似，亦可以本法加以區別。

(三)硝酸鹽還原酶（Nitrate reductase）測定法

植株缺氮時，植體硝酸鹽還原酶活性會降低。還原酶活性的高低亦為測定作物氮含量的方法之一，且甚為簡便，可用葉圓片迅速測得結果。但此酵素活性易受其他因素影響，結果不甚穩定，是其缺點。硝酸鹽還原酶試劑之配製及測試方法如下：0.2M 磷酸緩衝液（pH

7.5）2.5ml，0.1M KNO_3 1ml，100% n－propanol 0.25ml，chloramphenicol（0.5mg／ml）2滴，去離子水1.25mℓ。上述試劑依比例混合後，放置於棕色玻璃瓶中，取5 mℓ置於試管中，再加入葉圓片並蓋上橡皮塞混合均勻後放置約15分鐘，待葉片轉變為棕色時（依植物種類而定），再加1 ml 1% sulfanilic acid或3M sulfanilic amide鹽酸溶液停止反應，再加1ml 0.02% N-1-naphthyl ethylene diamide-HCl溶液，比較呈色反應（Jaworski, 1971）。

㈣胺基酸 ninhydrin 呈色法

本法適用於植株根部易將硝酸態氮還原為胺基酸的作物，曾有學者（Baxter, 1965）測試不同氮肥量供應下生長之蘋果、桃及柑桔的根部及樹皮胺基酸濃度，發現比分析葉片總氮含量，更能代表植株之營養狀況。本法另一優點是可在果樹生長或休眠期進行測試，其法為直接將根橫切，再將寧海都（Ninhydrin）試劑塗在切口，觀察呈色反應（Oland, 1954），或將根之切片用枸橼酸緩衝液（pH 5）萃取，取其定量置於試管中再加入2ml寧海都試劑（2% ninhydrin溶解在2-methoxy ethanol）在100℃滾水加熱20分鐘，冷卻後測其呈色程度，估計胺基酸之含量（Boxter, 1965）。而另一些作物如葡萄，以Arginine為重要氮之貯藏形態，分析時需注意其他養分之平衡。如在缺磷之狀態下，柑桔Arginine濃度會顯著增加，常有誤判之可能。

磷之測定

一般缺磷植株，葉色變為深綠色或略帶紅色，葉片直立（與莖之間之角度較小），其症狀視植物之種類而定，觀察根部時，根生長減少，常有粉紅色素累積（木瓜）或出現紅銹的顏色，後者係由於缺磷時，鐵容易被氧化的緣故（Yoshiaki，1971）。

㈠磷缺乏時，植株體內酸性磷酸鹽酶（acid phosphatase）活性增加，Besford（1980）認為該酵素活性增加與磷的缺乏具有相關性，可做為磷素供應狀況之快速、敏感之指標。其測試方法是利用醋酸緩衝液萃取植物體之酸性磷酸脂酶，使p-nitrophenyl phosphate水解為p-nitrophenol，後者在高pH（＞9）試劑中呈現黃色，可利用目測比較顏色深淺，間接推測磷之含量。

㈡釩鉬酸法

取均勻切碎葉片樣品置於試管中，加1ml鉬酸釩酸溶液（molybdate-vanadate solution）及3ml去離子水，振盪試管後，比較呈色反應。本法鉬酸釩酸溶液與磷產生黃色反應，顏色穩定且不與其他離子起干擾作用，因此較鉬藍法為佳。試劑之配製如下：溶解22.5g鉬酸銨於400ml去離子水中，再溶解1.25g釩酸銨於300ml滾水中，將後者倒入鉬酸銨溶液中，冷卻至室溫再加250ml濃硝酸沖淡至1公升。

㈢鉬藍法

①試　　劑：8 g之鉬酸銨溶於200mℓ之蒸餾水，加入126mℓ濃鹽酸及74mℓ蒸餾水攪拌，稀釋4倍（稀釋後不易久存），使用前需以空白試驗校正之。

②樣品製備：取大量（6—8株）整齊而無折損之葉片，去除中肋，以利刃切成大小長寬一致之小塊。再取定量葉片，放入小平底瓶，加入試劑至10mℓ。強烈振盪1分鐘後，加入少許草酸亞錫粉末，混合後呈淡綠至深藍等不同程度之顏色反應，再與標準液比對或於比色計中判讀（Kzantz et al, 1948）。

鉀之測定

缺鉀植株，莖皮層細胞壞死，附近活細胞失去膨壓，可用放大鏡或顯微鏡觀察。下位葉葉緣往往發生焦枯，乃由於腐肉胺（putrescine）累積之故，與氯過多有類似症狀。某些作物如百香果，缺鉀植株往往表現出缺鐵症狀，因此需要快速診斷缺乏何種症狀，缺鉀的測定有以下三種方法：

(一)Dipicrylamine 染色法

取 Dipicrylamine 1g，溶於10ml 2N 碳酸鈉，加75ml蒸餾水，配製成試劑。測試時，取植物組織（葉柄）薄片放置於載玻璃上，加 1 滴試劑，上覆蓋玻片，放置於顯微鏡下觀察，正常植株有紅色長方形結晶沈澱，缺鉀植株則無。

(二)Sodium tetraphenyl boron 法

取上述試劑之 1%水溶液 1 滴，置於黑色磁磚上，再加一滴植物組織壓榨液，以乾淨玻璃棒攪拌，可產生白色沈澱，與標準液比較，可估計樣品鉀濃度，此法鉀臨界濃度約在2000 $\mu g\ ml^{-1}$，超過此濃度白色沈澱不因鉀量之增加而增強（Scaife and Bray, 1977）。

(三)亞硝酸鈷鈉（Sodium cobaltinitrite）法

試劑之配製：溶解 5g 亞硝酸鈷鈉及30g 亞硝酸鈉（Sodium nitrite）於蒸餾水中，加 5 ml 冰醋酸，定量到100ml。由其中取 5ml，加到另一亞硝酸鈉溶液（亞硝酸鈉 15g 溶於100 ml 水中，並用醋酸調整 pH 至 5）中。取定量切細之葉片組織置於小玻璃瓶中，加10ml 上述試劑（21℃）用力搖動 1 分鐘，再加 5ml 95%之乙醇，混合後等待 2—3 分鐘，觀察沈澱之產生。沈澱多者含鉀量多，清澈之溶液為缺鉀樣品（Krantz et al. 1948）。

鈣之測定

缺鈣植株幼葉發生壞死現象，鈣缺乏對根部影響甚大，往往根尖壞死，根之長度變短，側根也有相同之症狀，在嚴重缺鈣植株，因細根大量壞死，吸水量也受到影響，葉片有下垂之現象。鈣濃度之測試，除利用 Merckoquant 試條外，也可利用 picrolonic acid 染色，其法如下：取 246 mg picrolonic acid 溶於100ml 蒸餾水中(黃色溶液)，使用前加 4 滴酚酞並以0.1N NaOH 中和，使溶液成淡粉紅色。使用時，切取葉柄薄片，置於載玻璃片上，加一滴試劑，於顯微鏡下觀察，有黃色稜形結晶沈澱者為正常，缺鈣者無沈澱。鈣缺乏時，在許多作物中會發生細胞自動分解現象，但需高倍顯微鏡，才可以觀察得到。

銅之測定

作物缺銅時，木質形成受到顯著的影響，因此缺銅植株常常出現幼葉變形，莖部扭曲，枝條下垂，禾本科植物容易倒伏等症狀，尤其在多施氮肥而缺銅之情況下最易發生。銅能影響細胞壁之形成，缺銅葉片，木質素形成減少而纖維素增加。嚴重缺銅植株，導管不能充分木質化。在輕微缺銅情況，也能顯現植株木質化的減少，同時對銅素之施用能夠迅速反應，因此可測試木質化程度來做為銅缺乏的診斷指標。其測試方法如下：取試藥 phloroglucin 8g， 溶於 100ml 酒精，再加20ml 濃鹽酸，配成試劑。使用時取葉柄薄片，加試劑一滴，利用光學顯微鏡鏡檢，正常植株組織呈紅色，缺銅者木質組織無紅色反應。

鐵之測定

缺鐵對植株主要影響為抑制葉綠素的形成，使幼葉黃化。缺鐵亦可影響許多種類植物根之形態，這些變化包括生長的抑制，根尖變粗，產生多量的根毛等，在水耕狀態下可利用肉眼加以辨別，如用顯微鏡觀察，則可發現根表皮細胞有增殖變厚的現象。對於鐵的吸收能力強的植物（efficient plant）亦可發現有特殊構造的細胞“transfer cell”，其特徵為細胞壁向內方生長，

細胞膜面積增大及粒線體大量增加等，其目的在幫助鐵的吸收，也可以做為診斷之輔助證據。又植物體內有一種普遍存在的含鐵酵素稱為過氧化物酶（peroxidase），對於鐵之供應甚為敏感，同時在缺鐵與缺錳症狀不易分辨之時，可藉此酵素活性之增減加以區別（缺鐵時過氧化物酶活性減少，缺錳時活性增加），其分析方法如下：用3mm cork borer切取葉圓片，即刻放入試管，再加0.5ml試劑（0.2 M醋酸緩衝液（pH 5.0），0.1% ascorbic acid及0.35M過氧化氫，以2：2：1體積比例混合）及0.1ml benzidine溶液（0.2g溶於80%酒精）振盪試管，比較出現藍色時間之快慢，以計算過氧化物酶活性之高低。

鋅之測定：

缺鋅植株一般症狀為節間縮短，葉簇生而小，或者幼葉黃化為斑紋狀。鋅的測試一般都比較複雜，除原子吸收光譜儀外，常利用含鋅酵素碳酸酐酶（carbonic anhydrase）之活性做為診斷指標，該酵素的分析方法如下：置新鮮葉圓片250mg於試管，加入3ml溶液〔0.02M Veronol-HCl緩衝液（pH8.0），2.3ml 0.018% peptone, 0.12ml 0.2% bromothymol blue（溶於酒精）〕，在冰水浴中（4℃）10分鐘，加0.5ml CO_2飽和水，記錄pH自8轉到6.3所需時間（碳酸酐酶亦可用Warburg respirometer測定，但較為複雜）。

硼之測定

缺硼植株嫩枝生長點常有壞死，側枝多，葉柄縱裂或橫裂，葉片厚而脆等症狀。如果採取莖部組織用顯微鏡鏡檢時，可以發現形成層細胞分裂增加，而分化則有減少現象，可以做為鑑定症狀之輔助證據，硼之測定有原子吸收光譜儀法、薑黃法(Diblo, et al 1954)、亞胺甲基（Azomethine-H）法（Lohes, 1982）等，都比較複雜費時，所用器皿亦需用塑膠而不可用玻璃製品，以減少污染，需特殊處理，不在此討論。

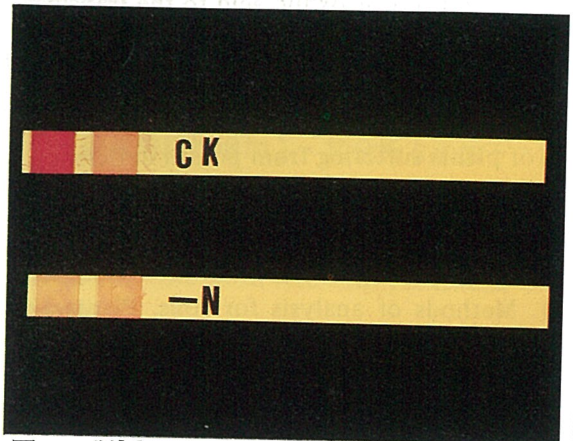
結　　論

快速組織測試常用於測定作物之輕微養分缺乏或者辨別由病蟲害與營養缺乏引起之類似症狀及用於田間之初步測試。其所使用的方法甚為簡單，但測試樣品之選擇與測試結果之評估則相當複雜。因為影響作物生長的因素衆多，外在因素可影響植株體內養分之利用，單一的測試結果可能有不同的原因，所以在評估時還要注意植株之一般生長狀況與活力，其他養分在植株內之濃度以及氣候狀況與一天內之測試時間等，方才有正確的結果。因此除了熟悉測試技術之外，還需要對作物本身及生理現象有所認識。

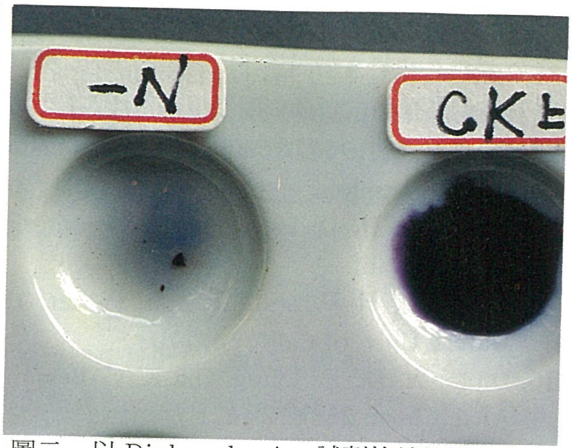
參考文獻

1. Bar-Akiva, A., and R. Lavon. 1969. Carbonic anhydrase activity as an indicator of zinc deficiency in citrus leaves. J. Hort. Sci. 44: 359–362.
2. Baxter, P. 1965. A simple and rapid test using the ninhydrin method for the determination of the nitrogen status of fruit trees. J. Hort. Sci. 40: 1–12.
3. Besford, R. T. 1980. A rapid tissue test for diagnosing phosphorus deficiency in tomato plants. Ann. Bot. 45: 225–227.
4. Bould, C. 1984. Methods of diagnosing nutrient disorders in plants. In Diagnosis of Mineral Disorders in plants. Vol. 1. Principles. J. B. D. Robison ed. Chemical Publishing, New York. pp. 112–114.

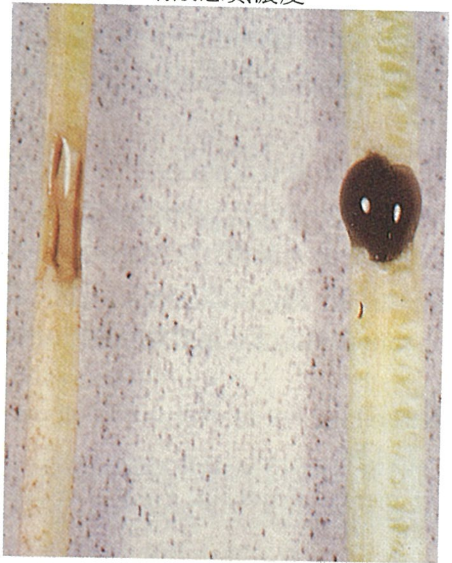
5. Brumagen, D. M., and A. J. Hiatt. 1966. The relationship of oxalic acid to the translocation and utilization of calcium in *Nicotiana tabacum*. Plant Soil 24: 239–249.
6. Burkhart, L. F. 1941. Potassium determination by the cobaltinitrate method as affected by temperature and pH. Plant Physiol. 16: 411–414.
7. Bussler, W. 1964. Comparative examinations of plants suffering from potash deficiency. Verlag Chemie.
8. Chapman, H. D. 1966. Diagnostic criteria for plants and soil. Riverside Div. Agric. Sci., Univ. of Calif.
9. Chapman, H. D., and F. Prat. Parker. 1961. Methods of analysis for soils. Plants and Waters. Univ. of Calif. pp. 170.
10. Diblo, W. D., E. Truog, and K. C. Berger. 1954. Boron determination in soils and plants. Anal. Chem. 26: 418–421.
11. Gilbert, W. A., A. E. Ludwick, and D. G. Weotfall. 1983. Predicting in-season N requirements of sugar beets based on soil and petiole nitrate. Agron. J. 73: 1018–1022.
12. Hylton, L. O. Jr., A. Ulrich, and D. R. Cornelins. 1965. Comparison of nitrogen constituents as indicators of the nitrogen status of Italian ryegrass and relation of top to root growth. Crop Sci. 5: 21–22.
13. Islam, M. M., and F. N. Ponnamperuma. 1982. Soil and plant tests for available sulfur in wetland rice soils. Plant Soil 68: 97–113.
14. Jaworski, E. G. 1971. Nitrate reductase assay in intact plant tissues. Biochem. Biophys. Res. Comm. 43: 1274–1279.
15. Krantz, B. A., W. L. Nelson, and L. F. Burkhart. 1948. Plant-tissue tests as a tool in agronomic research. In: Diagnostic techniques for soils and crops. Am. Patash Inst. Washington D. C. pp. 137–155.
16. Lohse, G. 1982. Microanalytical azomethine-H method for boron determination on plant tissue. Commun. in Soil Sci. Plant Anal. 13(2): 127–134.
17. Marschner, H. 1986. Mineral nutrition of higher plants. Academic Press, London. pp. 287–407.
18. Nicholas, D. J. D. 1948. The applications of rapid chemical tests to the diagnosis of mineral deficiencies in horticultural crops. I. Crops grown on a manurial trial. J. Hort. Sci. 24: 72–105.
19. Nicholas, D. J. D. 1957. An appraisal of the use of chemical tests for determining the mineral status of crops. In: Plant analysis and fertilizer problems. P. Prevot ed. I. H. R. O. Paris. pp. 119–139.
20. Oland, K. 1954. Nitrogenous constituents of apple maidens grown under different nitrogen treatments. Physiologia Pl. 7: 463–474.
21. Torrecillas, A., A. Leon. F. del Amor., and M. C. Martisez-Mompeam. 1985. A rapid chronometric assay of peroxidase activity in citrus leaf discs. Scientia Hortic. 26: 273–277.
22. Ulrich, A., and L. O. Jr. Hylton. 1968. Sulfur nutrition of Italian ryegrass measured by growth and mineral content. Plant Soil 29: 274–284.
23. Ulrich, A., M. A. E. Mostafa, and W. W. Allen. 1980. Strawberry deficiency symptoms. A Visual and Plant analysis guide to Fertilization. Agric Exp. Sta., Univ. of Calif.
24. Yoshiaki, S. 1978. Nutrient deficiencies of crops. Food and Fert. Tech. Center, Taiwan. pp. 10–12.



圖一 以Merckoquant試紙快速測定缺氮株及正常株之硝酸態氮濃度。



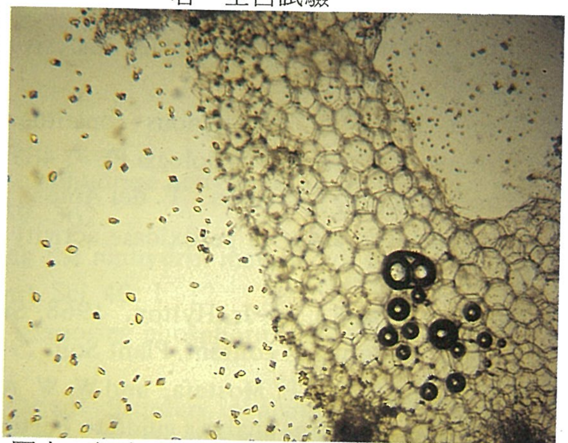
圖二 以 Diphenylamine 試劑快速測定缺氮株及正常株之硝酸態氮濃度。



圖三 以 Diphenylamine 滴於缺氮草莓葉柄之切口，則呈負反應（無色） 對照組則呈深藍色之正反應

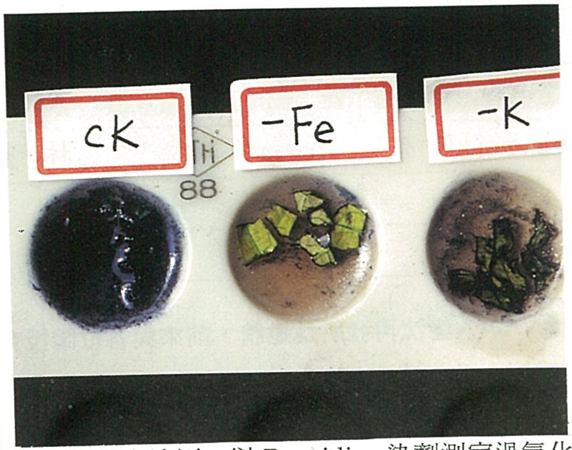
圖四 硝酸鹽還原酶測定法：
左—正常株有較高之活性呈桃紅色
中—缺氮株活性較低呈淡紅色
右—空白試驗

圖五 磷之速測法：
左：酸性磷酸酯酶於缺磷植株活性較高，呈深黃色
右：對照組酸性磷酸酯酶活性較低，呈淺黃色

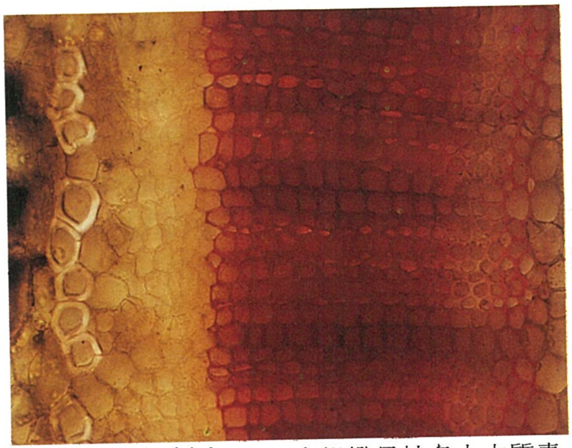


圖六 鈣之速測法：以 Picrolonic acid 染劑與鈣離子形成黃色菱形結晶之植物組織切片。

圖七　鉀之速測法：以 Dipicrylamine 染劑與鉀離子形成紅色結晶之植物組織切片。



圖八　鐵之速測：以 Benzidine 染劑測定過氧化物酶活性
右：對照組具較高之活性，呈深藍色，且出現藍色之反應時間較短（6 sec）
中：缺鐵株具較低之活性，呈淡藍色，且出現藍色之反應時間較長（45 sec）。
左：缺鉀株易引起缺鐵症，具較低活性，且出現藍色之反應時間較長（40 sec）



圖九　銅之速測：含銅之組織具較多之木質素與 phloroglucin 反應呈紅色。